

Experimentelle Untersuchungen zur hyaluronidasehemmenden Wirkung des Histamins

von

KURT HÖLAND

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Experimentelle Untersuchungen
zur hyaluronidasehemmenden Wirkung des Histamins

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Kurt Höland

aus

Berlin

München 1960/



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. H. Schwiegk *EHL*

Tag der mündlichen Prüfung: *7.2.1961*

Meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Eigene Untersuchungen	7
Methodik	7
Versuchsreihen	8
Statistische Auswertung	15
Diskussion	36
Zusammenfassung	38
Literaturverzeichnis	39

Problematik

In früheren Untersuchungen haben M a t h i e s ¹⁻¹⁰ und Mitarbeiter ¹¹⁻¹⁶ am Beispiel der Salicylate, des Phenylbutazons, der Glucocorticoide, des Chloraethylbenzmethoxazons, des Oestroneulfates und der im Moor wirksamen Substanzen feststellen können, daß deren hyaluronidasehemmende Wirkung an eine Funktion des Nebennierenmarkes gebunden zu sein scheint. Im einzelnen zeigten die Versuche, daß die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bei hypophysektomierten Tieren ebenfalls auftritt, bei adrenaletomierten Ratten dagegen ausbleibt. Die Versuchsergebnisse besagen zunächst, daß die Anwesenheit der Nebenniere für das Zustandekommen des Effektes hyaluronidasehemmender Substanzen erforderlich ist.

Nach Untersuchungen von D o m e n j o z ¹⁷, M a t h i e s ⁹ und J u n g ¹⁸ bleibt die Ascorbinsäuredepletion der Nebenniere, die bei intakten Ratten unter hyaluronidasehemmenden Substanzen deutlich ist, bei hypophysektomierten Tieren aus. Diese Ergebnisse bedeuten, daß bei hypophysektomierten Ratten eine Stimulierung der Nebennierenrinde nicht stattfindet, da nach S a y e r s und S a y e r s ¹⁹ die Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere als Ausdruck der innersekretorischen Funktion der Rinde angesehen wird. Da einerseits bei hypophysektomierten Ratten eine Nebennierenrindenaktivierung nicht stattfindet, aber andererseits die Hyaluronidasehemmung vorhanden ist, kann gefolgert werden, daß die bei intakten Ratten wohl vorhandene Nebennierenrindenstimulierung nicht für das Zustandekommen des hyaluronidasehemmenden Effektes maßgebend sein kann. Es wurde deshalb angenommen, daß einer inkretorischen Funktion des Nebennierenmarkes bei in vivo hyaluronidasehemmenden Substanzen eine besondere Bedeutung zukommt. Diese Vermutung wurde durch Arbeiten von M a t h i e s ²⁰, S c h e u f e l e ²¹ und S c h m i d t ²² gestützt, nach denen die Nebennierenmarkkatecholamine Adrenalin und Noradrenalin sowohl bei intakten als auch adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehem-

mung gleicher Größenordnung erkennen lassen, wenn sie in Dosen über 0,5 g/100 g Ratte i.v. appliziert werden. Weiter haben Mathies²³, Weiss²⁴, Schmidt²², Vogel²⁵ und Lingnau²⁶ feststellen können, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung sowohl des Adrenalins als auch des Natriumsalicylates, des Phenylbutazons, des Prednisolons, des Oestronsulfates und der Moorbäder nach Gabe von Ergotamintartrat bzw. Regitin, die Adrenolytica darstellen, aufgehoben wird. Diese Versuche wurden an Ratten bzw. Menschen durchgeführt. Sie machen wahrscheinlich, daß der hyaluronidasehemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark läuft. Diese konnten durch Untersuchungen von Mathies^{5-8, 27-29}, Wiesmüller³⁰, v. Kuepach³¹, v. Werther³² und Schub³³ durch Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren nach Gabe hyaluronidasehemmender Substanzen indirekt sichtbar gemacht werden.

In Untersuchungen von Scheufele²¹ wurde gezeigt, daß bei adrenaletomierten Tieren der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins erst dann sichtbar wird, wenn die Wirkung auf die Pupillenweite bereits abgeklungen ist. Das Maximum liegt nach Injektion von 1 g/100 g Tier etwa bei 15 min p.i., bei Applikation von 6 g/100 g Tier bei etwa 45 min p.i.. Um die Tatsache des erst nach Abklingen der primären Katecholaminwirkung auftretenden hyaluronidasehemmenden Effektes näher aufzuklären, hat Schlierf¹³ adrenaletomierten Ratten eine Adrenalininfusion über 2 Stunden verabfolgt und auch hier erst in einem gewissen Zeitabstand nach Absetzen der Infusion das Auftreten der Hyaluronidasehemmung beobachtet. Die Anwesenheit von Oxydationsprodukten der Katecholamine kann nach diesen Versuchen nicht für die Auslösung der Hyaluronidasehemmung verantwortlich gemacht werden, da sie im Verlauf der zweistündigen Adrenalininfusion in ausreichender Menge zur Verfügung stehen. Wenn man während einer Adrenalininfusion "Spitzen" einer vorübergehend höheren Adrenalin dosierung durch i.v. Injektion setzt, so kommt es bereits während der Infusion zur deutlichen Hyaluronidasehemmung und zwar wieder in gewissen Zeitabständen auf die gesetzten "Spitzen". Nach diesen Versuchen ist anzunehmen, daß die Hyaluronidasehemmung immer dann ausgelöst wird, wenn der Katecholamingehalt des Blutes von einem höheren auf ein niedrigeres Niveau absinkt.

Nach diesen Feststellungen kann angenommen werden, daß im Anschluß an die Katecholaminwirkung eine Reaktionskette in Gang gesetzt wird oder zumindest ein weiterer Faktor zur Auslösung kommt, der letztlich die Hyaluronidasehemmung hervorruft. Es wurde deshalb nach körpereigenen Stoffen gesucht, die eine hyaluronidasehemmende Wirkung besitzen. Der hyaluronidasehemmende Effekt z.B. des Histamins wurde in einer Literaturzusammenstellung von P a n t l i t s c h k o und K a i s e r ³⁴ unterschiedlich dargestellt. Von K o n t i s ³⁵ konnte mit der gleichen Methodik, wie sie in der vorgelegten Arbeit angewandt wurde und weiter unten ausführlich beschrieben wird, eine hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins festgestellt werden. Es war deshalb interessant, diese Ergebnisse zu objektivieren und die Mengen auszutesten, die notwendig sind, um eine Hyaluronidasehemmung zu erzeugen.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Bei den Versuchen wurden weiße männliche Ratten verwendet. 48 Stunden vor den Versuchen wurde die Bauchhaut mit Pilca enthaart. Die Hyaluronidaseaktivität wurde in den Versuchsreihen 1-4 an der Ausbreitung einer Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor und zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Histamin-Injektion ermittelt. In Versuchsreihe 5 und 6 wurde neben den Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln Histamin in absteigenden Dosen direkt in die Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln gebracht und die Ausbreitung gegenüber den histaminfreien Quaddeln ermittelt.

Die reine Farbstoff-Quaddel wurde mit 0,1 ccm einer 0,06%igen Evansblau-Lösung streng intracutan gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung wurden in 2 ccm der oben genannten Farbstofflösung 150 IE Hyaluronidase (Kinetin, Schering A.G.) gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Ausgewertet wurde die 10 Minuten nach Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstoff-Flecken, deren Konturen auf Zelluloidstreifen übertragen und anschließend planimetrisch ausgemessen wurden. Es zeigte sich, daß die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine viel raschere Ausbreitung aufweist als die reine Farbstoff-Quaddel. Nach i.v. Histamingaben tritt eine deutliche Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel auf. Bei

direkter Applikation des Histamins in die Farbstoff+Hyaluronidase- bzw. Farbstoff-Quaddel zeigt sich der gleiche Effekt gegenüber den histaminfreien Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln. Die Versuche wurden in Narkose mit 30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier durchgeführt. Nach W i l h e l m i ³⁶ ist ein Einfluß der Barbiturate auf die Aktivität der Hyaluronidase nicht feststellbar.

Versuchsreihe 1a und 1b

Bei diesen Versuchen wurde den Tieren 1 γ Histamin/100 g Tier i.v. injiziert. Die Hyaluronidasehemmung wurde nach der oben angegebenen Methode in Versuchsreihe 1a 10 bzw. 30 Minuten und in Versuchsreihe 1b 20 bzw. 40 Minuten nach der Injektion bestimmt. Die Versuchsergebnisse finden sich in Tabelle 1 und 2.

Versuchsreihe 2a und 2b

In dieser Versuchsreihe wurde den Ratten 0,5 γ Histamin/100 g Tier i.v. injiziert. Die in Tabelle 3 und 4 erhaltenen Werte zeigen die Hyaluronidasehemmung 10 bzw. 30 und 20 bzw. 40 Minuten nach der Injektion.

Versuchsreihe 3a und 3b

Es wurde den Ratten in dieser Versuchsreihe 0,3 γ Histamin/100 g Tier i.v. injiziert. Die Hyaluronidasehemmung 10 bzw. 30 und 20 bzw. 40 Minuten nach der i.v. Injektion ist aus Tabelle 5 und 6 ersichtlich.

Versuchsreihe 4a und 4b

In dieser Versuchsreihe wurde den Ratten 0,1 γ Histamin/100 g Tier i.v. injiziert. Die in Tabelle 7 und 8 aufgezeigten Werte 10 bzw. 30 und 20 bzw. 40 Minuten nach der erfolgten i.v. Injektion zeigen keine Hyaluronidasehemmung mehr.

Versuchsreihe 5

Bei diesem Versuch wurde 0,1 γ Histamin direkt in die Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel injiziert und die Hyaluronidasehemmung gegenüber den histaminfreien Quaddeln ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 festgehalten.

Versuchsreihe 6

Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse der Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln bei direkter Injektion von 0,05 γ Histamin in die

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor mm ²	10'nach mm ²	30'nach mm ²	vor mm ²	10'nach mm ²	30'nach mm ²
			1 γ Histamin / 100 g Tier i.v.					
I	1	210	136	128	125	240	184	179
I	2	205	128	118	120	210	176	170
I	3	195	125	115	118	216	175	170
I	4	230	110	108	119	230	182	176
I	5	235	121	115	119	227	190	175

T a b e l l e 1

(Versuchsreihe 1a)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor mm ²	20'nach mm ²	40'nach mm ²	vor mm ²	20'nach mm ²	40'nach mm ²
			1 γ Histamin / 100 g Tier i.v.					
II	6	190	118	127	116	223	185	160
II	7	225	138	130	124	240	205	188
II	8	200	124	125	118	210	180	168
II	9	215	120	128	119	224	183	175
II	10	185	100	95	105	190	168	150

T a b e l l e 2

(Versuchsreihe 1b)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor mm ²	10'nach mm ²	30'nach mm ²	vor mm ²	10'nach mm ²	30'nach mm ²
			0,5 γ Histamin / 100 g Tier i.v.					
III	1	165	121	128	135	216	200	192
III	2	175	127	129	118	230	205	196
III	3	180	134	139	128	235	227	198
III	4	140	129	132	120	239	210	193
III	5	185	115	103	125	210	182	170

T a b e l l e 3
(Versuchsreihe 2a)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor <u>mm</u> ²	20'nach <u>mm</u> ²	40'nach <u>mm</u> ²	vor <u>mm</u> ²	20'nach <u>mm</u> ²	40'nach <u>mm</u> ²
			0,5 γ H i s t a m i n / 100 g Tier i.v.					
IV	6	185	130	135	137	250	242	228
IV	7	175	138	135	130	238	220	210
IV	8	185	135	132	123	229	200	180
IV	9	155	135	130	139	240	227	205
IV	10	170	119	118	123	230	198	174

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 2b)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor	10'nach	30'nach	vor	10'nach	30'nach
			mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
			0,3 γ H i s t a m i n			/ 100 g Tier i.v.		
V	1	165	113	125	117	223	211	202
V	2	165	112	115	128	210	187	172
V	3	165	98	103	107	210	161	148
V	4	175	126	123	115	209	195	172
V	5	165	106	117	108	198	179	168

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe 3a)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor	20'nach	40'nach	vor	20'nach	40'nach
			mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
			0,3 γ H i s t a m i n			/ 100 g Tier i.v.		
VI	6	220	108	115	113	223	210	198
VI	7	205	118	105	122	227	210	198
VI	8	185	127	132	121	218	200	183
VI	9	190	125	109	112	214	207	205
VI	10	165	120	105	112	205	182	175

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 3b)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor	10'nach	30'nach	vor	10'nach	30'nach
			$\frac{\text{mm}^2}{0,1 \text{ g}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Histamin}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Histamin}}$	$\frac{\text{mm}^2}{100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Tier i.v.}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Tier i.v.}}$
VII	1	185	105	120	102	195	182	178
VII	2	175	110	110	115	210	208	188
VII	3	150	112	108	98	208	205	210
VII	4	160	112	108	102	182	185	180
VII	5	200	95	106	112	190	193	187

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 4a)

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
			vor	20'nach	40'nach	vor	20'nach	40'nach
			$\frac{\text{mm}^2}{0,1 \text{ g}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Histamin}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Histamin}}$	$\frac{\text{mm}^2}{100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Tier i.v.}}$	$\frac{\text{mm}^2}{\text{Tier i.v.}}$
VIII	6	190	114	120	110	203	205	210
VIII	7	195	123	108	115	197	203	200
VIII	8	175	112	117	115	195	208	192
VIII	9	165	109	112	100	190	183	185
VIII	10	200	125	128	115	238	239	243

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe 4b)

0,1 % Histamin in die Quaddel

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyase- Quaddel	Farbstoff+ Histamin Quaddel	Farbstoff+ Hyase+Hista- min-Quaddel
IX	1	150	112 mm ²	220 mm ²	110 mm ²	168 mm ²
					95 mm ²	156 mm ²
IX	2	145	102 mm ²	200 mm ²	85 mm ²	125 mm ²
					78 mm ²	128 mm ²
IX	3	155	115 mm ²	235 mm ²	93 mm ²	145 mm ²
					86 mm ²	127 mm ²
IX	4	140	102 mm ²	208 mm ²	93 mm ²	152 mm ²
					92 mm ²	142 mm ²
IX	5	155	115 mm ²	215 mm ²	107 mm ²	149 mm ²
					102 mm ²	141 mm ²

T a b e l l e 9

(Versuchsreihe 5)

0,05 % Histamin in die Quaddel

Film Nr.	Tier Nr.	Gewicht in g	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyase- Quaddel	Farbstoff+ Histamin- Quaddel	Farbstoff+ Hyase+Hista- min-Quaddel
X	1	135	110 mm ²	211 mm ²	129 mm ² 221 mm ²	204 mm ² 201 mm ²
X	2	135	130 mm ²	223 mm ²	123 mm ² 124 mm ²	227 mm ² 217 mm ²
X	3	130	132 mm ²	235 mm ²	122 mm ² 135 mm ²	237 mm ² 228 mm ²
X	4	155	126 mm ²	203 mm ²	125 mm ² 130 mm ²	200 mm ² 208 mm ²
X	5	130	118 mm ²	200 mm ²	126 mm ² 106 mm ²	205 mm ² 203 mm ²
X	6	140	126 mm ²	217 mm ²	130 mm ² 128 mm ²	214 mm ² 225 mm ²

T a b e l l e 10
(Versuchsreihe 6)

Quaddel. Eine Hyaluronidasehemmung gegenüber den histaminfreien Quaddeln ist hier nicht mehr feststellbar.

I. Auswertung der Versuchsreihe 1-4

1. Statistische Methodik

Bei der vorliegenden Versuchsanordnung - Bestimmung mehrerer Wirkungsstufen am gleichen Versuchstier - stellt die mehrfache Varianz-Analyse die zweckmäßigste Form der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse dar. Für die Durchführung dieser Varianz-Analysen wird dabei vorausgesetzt, daß die Versuchsergebnisse wesentlich von 2 Faktoren bestimmt werden, nämlich der individuellen biologischen Variabilität zwischen den Tieren und der eigentlichen hyaluronidasehemmenden Wirkung des Histamins. Die Varianz-Analyse gestattet es, den Einfluß dieser beiden Faktoren auf die Versuchsergebnisse voneinander zu trennen, d.h. die hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins unabhängig von den speziellen biologischen Gegebenheiten der Versuchstiere zu untersuchen.

Die Anwendung der Varianz-Analyse und damit die Trennung der beiden genannten Faktoren setzt allerdings voraus, daß sich die Wirkung dieser beiden Faktoren unabhängig voneinander additiv überlagert, d.h. daß die durch die Histamin-Applikation bewirkten Änderungen in den Quaddel-Größen von den jeweiligen Versuchstieren unabhängig sind. Es darf angenommen werden, daß diese Annahme den biologischen Gegebenheiten der Versuche in erster Näherung gerecht wird; bei Langzeit-Versuchen, bei denen für die einzelnen Zeitpunkte, zu denen die Hyaluronidasehemmung bestimmt wurde, Doppelbestimmungen vorlagen, konnte dieses gezeigt werden. Gewisse Anhaltspunkte über die Richtigkeit dieser Voraussetzung bei den vorliegenden Versuchen liefert der Bartlett-Test (s.u.).

Nach-Voraussetzung ist die Änderung, die ein Quaddel-Typus p.i. gegenüber seinem Ausgangswert erfährt, nur von dem Zeitpunkt p.i. abhängig, nicht jedoch von dem Versuchstier. Selbstverständlich zeigen die Meßwerte, die an einem Versuchstier gemessen wurden, Abweichungen von denjenigen Werten, die auf Grund des statistischen Modelles zu erwarten sind. Diese Abweichungen sind teilweise durch experimentelle Fehler bedingt, teilweise sind sie jedoch auch Ausdruck der biologischen Variabilität in der Reaktion der Tiere. Aufgabe der Statistik ist es, die Größe dieser Abweichungen zu schätzen (Versuchsfehler), außerdem aber auch die Größen der Änderungen, welche die beiden Quaddel-Typen p.i. gegenüber ihrem Ausgangswert erfahren, zu bestimmen. Hierzu wird

zunächst für jeden Zeitpunkt t der Mittelwert $\bar{x}_t$ aus den zu diesem Zeitpunkt bei den Versuchstieren beobachteten Quaddel-Größen errechnet ($\bar{x}_0$ ist der Mittelwert, der aus den Ausgangswerten berechnet wird). Für einen beliebigen Zeitpunkt t -Minuten p.i. ist die Differenz $\bar{x}_t - \bar{x}_0$ die beste, aus den vorliegenden Versuchsergebnisse zu gewinnen-
de statistische Schätzung für die von der individuellen Variabilität der Tiere bereinigte Änderung der Quaddel-Größen zum Zeitpunkt t gegenüber dem Ausgangswert, welche durch die i.v. Applikation von Histamin bewirkt wird.

Als Schätzungen der tatsächlichen Differenzen sind die aus den Stichproben-Mitteln errechneten Differenzen $\bar{x}_t - \bar{x}_0$ mit Schätzfehlern behaftet. In den Varianz-Analysen wird die Hypothese geprüft, daß es sich bei allen in Betracht gezogenen Schätzungen um Schätzungen der realen Differenz 0 handelt. Zur Prüfung dieser Hypothese wird die "Varianz zwischen den Zeiten" mit der sogenannten "Rest-Varianz" verglichen, da die Rest-Varianz die Schätzung des Versuchsfehlers darstellt. Trifft die sogenannte Null-Hypothese zu, so unterscheidet sich die "Varianz zwischen den Zeiten" nur zufällig von der Rest-Varianz. Als Maß für diese "Zufälligkeit" dient der Varianz-Quotient zwischen diesen beiden Varianzen; er liefert eine Aussage darüber, mit welcher Wahrscheinlichkeit Abweichungen zwischen den beiden Varianz-Komponenten, wie sie in den Varianz-Analysen beobachtet werden, noch zufällig auftreten können. Ist diese Wahrscheinlichkeit, die sogenannte Überschreitungswahrscheinlichkeit p des Varianz-Quotienten $F_{emp.}$ kleiner als 5%, so ist es üblich, die Unterschiede zwischen den beiden Varianzen nicht mehr als zufällig anzusehen, d.h. in diesem Fall wird die Null-Hypothese verworfen und angenommen, daß die beobachteten Mittelwertdifferenzen nicht mehr alle als Schätzungen einer realen Differenz 0 angesehen werden können. Die Wahrscheinlichkeit dafür, die Null-Hypothese fälschlich zu verwerfen, d.h. fälschlich anzunehmen, daß sich die Quaddel-Größen im Verlaufe des Versuches geändert haben, entspricht der Überschreitungswahrscheinlichkeit p des Varianz-Quotienten. Je nachdem ob diese Überschreitungswahrscheinlichkeit 5%, 1% bzw. 0,1% ist, spricht man von einer schwachen, ausreichenden bzw. starken statistischen Sicherung. (Die Grenzen 5%, 1% und 0,1% sowie die Bezeichnungen schwach, ausreichend und stark sind konventioneller Natur, sie sind aus reinen Zweckmäßigkeitsgründen gewählt.) Man nennt die Wahrscheinlichkeit p die Irrtumswahrscheinlichkeit, da sie die Chance dafür angibt, daß man fälschlicherweise die Null-Hypothese verwirft.

Die Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit ist die wesentlichste Aussage eines statistischen Tests.

Innerhalb jedes in einem Versuch betrachteten Zeitpunktes t weisen die beobachteten Meßwerte eines Quaddel-Typus eine Varianz s^2 um das arithmetische Mittel $\bar{x}_t$ auf. Trifft die in dem statistischen Modell enthaltene Hypothese zu, daß die Änderung der Quaddel-Größen weitgehend von dem individuellen Tier unabhängig ist, so folgt hieraus, daß die Varianzen s^2 zu den verschiedenen Zeitpunkten untereinander homogen sein müssen. Ob diese Folgerung aus dem statistischen Modell zutrifft, kann man mittels des Bartlett-Testes prüfen. Hierzu wird eine Prüfgröße $\chi^2_{\text{emp.}}$ berechnet, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit p in der zugehörigen Chi-Quadrat-Prüfverteilung angibt, mit welcher Wahrscheinlichkeit Abweichungen, wie sie bei den Varianzen s^2 beobachtet wurden, auftreten können, wenn diese Abweichungen nicht systematischer sondern nur zufälliger Natur sind. Bei diesem Test ist es üblich, Unterschiede zwischen beobachteten Varianzen s^2 als zufällig anzusehen, wenn die Prüfgröße $\chi^2_{\text{emp.}}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die größer ist als 5%. Das Ergebnis des Bartlett-Testes findet sich am Fuße der zugehörigen Varianz-Analyse in den Tabellen 11-18. Es bedeutet darin n die Zahl der Freiheitsgrade, durch welche die Chi-Quadrat-Prüfverteilung charakterisiert ist; $\chi^2_{\text{emp.}}$ ist der Wert der Prüfgröße und p die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welche der Prüfgröße in der zugehörigen Prüf-Verteilung zukommt. Da die beobachteten Überschreitungswahrscheinlichkeiten p in keinem Fall kleiner als 5% sind, liegt keine Veranlassung dafür vor anzunehmen, daß die miteinander verglichenen Varianzen s^2 nicht homogen seien. Dieses bedeutet, daß die Versuchsergebnisse hinsichtlich der Größe der Varianzen s^2 zu den einzelnen Zeitpunkten eines Versuches mit der sich aus dem statistischen Modell ergebenden Folgerung vereinbar sind.

In denjenigen Fällen, in denen die Varianz-Analyse gesicherte Unterschiede zwischen den Quaddel-Größen in den verschiedenen Zeitpunkten eines Versuches liefert, war noch gesichert zu prüfen, für welchen Zeitpunkt speziell eine gesicherte Änderung gegenüber dem Ausgangswert vorliegt. Diese Frage wurde mit Hilfe des Rangordnungs-Testes von Duncan geprüft, wobei als Fehlervarianz wiederum die Rest-Varianz aus den Varianz-Analysen zugrunde gelegt wurde. Geprüft wird hierbei die Hypothese, daß eine spezielle Mittelwertdifferenz $\bar{x}_t - \bar{x}_0$ eine Schätzung der realen Differenz 0 ist. Es wird wieder die Wahrscheinlichkeit dafür

bestimmt, daß die Abweichung der betreffenden Differenz vom Wert 0 zufällig ist; ist diese Wahrscheinlichkeit kleiner als 5 bzw. 1%, so wird die Hypothese verworfen und als Alternative behauptet, daß die betreffende Differenz Schätzung einer von 0 verschiedenen realen Differenz sei.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Alternativ-Behauptung beträgt dabei wieder 5% bzw. 1%. Während die Varianz-Analyse aussagt, daß durch die Medikation Effekte auf die Quaddel-Größen ausgeübt wurden, sagt der anschließende Duncan-Test aus, zu welchen Zeitpunkten solche Effekte gegenüber dem Ausgangswert vorliegen. Es erscheint wichtig, darauf hinzuweisen, daß aus logischen Gründen die Entscheidung dieser zweiten Frage erst möglich ist, wenn die Varianz-Analyse überhaupt Effekte aufgewiesen hat. (Bei vielen biologisch-medizinischen Untersuchungen wird dieses leider übersehen, was häufig zu falschen Schlüssen Anlaß gibt).

2. Ergebnisse der statistischen Auswertung der Versuchsreihen 1-4

Die Ergebnisse der Varianz-Analysen finden sich in den Tabellen 11 - 18. Es bedeutet in diesen Tabellen

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: den Varianz-Quotienten der betreffenden Varianz-Komponente mit der Rest-Varianz
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Im einzelnen haben die Varianz-Analysen folgendes Ergebnis geliefert: Farbstoff-Quaddel: Bei keiner Versuchsreihe liefern die Varianz-Analysen Hinweise dafür, daß durch die Histamin-Applikation die Größe der reinen Farbstoff-Quaddel beeinflusst wird. Die Abweichungen zwischen den Werten der reinen Farbstoff-Quaddeln zu verschiedenen Zeitpunkten sind als zufälliger Natur anzusehen. Ob bei größeren Stichprobenumfängen möglicherweise statistisch gesicherte Änderungen der reinen Farbstoff-Quaddel nachweisbar wären, läßt sich aus den vorliegenden Ergebnissen nicht beurteilen.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel: Bei allen Teil-Versuchsreihen der Versuchsreihen 1, 2 und 3 zeigen die Varianz-Analysen, daß durch die Histamin-Applikation Änderungen in der Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel bewirkt werden, die statistisch hoch gesichert sind. Bei

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	477	119	7,44	1%
Zwischen Zeiten	2	130	65	4,06	-
Rest-Varianz	8	130	16		
Gesamt-Varianz	14	737	53		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 4,939; \quad p = 5\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	558	139	5,15	5%
Zwischen Zeiten	2	7.469	3.734	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	214	27		
Gesamt-Varianz	14	8.241	589		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 4,757; \quad p = 5\%$$

T a b e l l e 11

(Versuchsreihe 1a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	602	150	2,21	-
Zwischen Zeiten	2	3	2	-	-
Rest-Varianz	8	545	68		
Gesamt-Varianz	14	1.150	82		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,577; \quad p = 20\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.904	476	12,86	1%
Zwischen Zeiten	2	3.308	1.654	44,70	0,1%
Rest-Varianz	8	294	37		
Gesamt-Varianz	14	5.506	393		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,598; \quad p = 70\%$$

T a b e l l e 13
(Versuchsreihe 2a)

Farbstoff-Quaddel					
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	464	116	5,04	5%
Zwischen Zeiten	2	5	3	-	-
Rest-Varianz	8	186	23		
Gesamt-Varianz	14	655	47		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,227; \quad p = 98\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	3.202	801	14,05	0,1%
Zwischen Zeiten	2	3.613	1.806	31,68	0,1%
Rest-Varianz	8	456	57		
Gesamt-Varianz	14	7.271	519		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 3,230; \quad p = 10\%$$

T a b e l l e 14
(Versuchsreihe 2b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	813	203	8,46	1%
Zwischen Zeiten	2	83	41	1,71	-
Rest-Varianz	8	196	24		
Gesamt-Varianz	14	1.092	78		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,195; \quad p = 90\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2.538	634	7,83	1%
Zwischen Zeiten	2	3.605	1.802	9,01	1%
Rest-Varianz	8	646	81		
Gesamt-Varianz	14	6.789	485		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,469; \quad p = 20\%$$

T a b e l l e 15
(Versuchsreihe 3a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	433	108	2,16	-
Zwischen Zeiten	2	103	51	1,02	-
Rest-Varianz	8	399	50		
Gesamt-Varianz	14	935	67		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,528; \quad p = 20\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	433	108	-	-
Zwischen Zeiten	2	1.664	832	6,50	5%
Rest-Varianz	8	1.024	128		
Gesamt-Varianz	14	3.121	223		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,583; \quad p = 70\%$$

T a b e l l e 16
(Versuchsreihe 3b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	95	24	-	-
Zwischen Zeiten	2	59	30	-	-
Rest-Varianz	8	447	56		
Gesamt-Varianz	14	601	43		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,258; \quad p = 80\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.446	361	9,25	1%
Zwischen Zeiten	2	187	93	2,38	-
Rest-Varianz	8	311	39		
Gesamt-Varianz	14	1.944	139		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,008; \quad p = 99\%$$

T a b e l l e 17
(Versuchsreihe 4a)

Farbstoff-Quaddel					
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{\text{emp.}}$	p
Zwischen Tieren	4	369	92	3,17	-
Zwischen Zeiten	2	113	56	1,93	-
Rest-Varianz	8	234	29		
Gesamt-Varianz	14	716	51		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,116; \quad p = 90\%$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{\text{emp.}}$	p
Zwischen Tieren	4	4.952	1.238	47,62	0,1%
Zwischen Zeiten	2	23	12	-	-
Rest-Varianz	8	206	26		
Gesamt-Varianz	14	5.181	370		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,127; \quad p = 90\%$$

T a b e l l e 18
(Versuchsreihe 4b)

den zwei Teilversuchsreihen der Versuchsreihe 4 ist dieses nicht der Fall. Hieraus ergibt sich bereits, daß die in dieser Versuchsreihe angewandte Dosis von $0,05 \gamma$ Histamin zu niedrig ist, um eine Hyaluronidasehemmung hervorzurufen.

Für die Versuchsreihen 1, 2 und 3 war in dem oben dargelegten Sinne noch zu prüfen, für welche Zeitpunkte gesicherte Änderungen der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gegenüber dem Ausgangswert vorliegen. Das Ergebnis dieser Prüfung, die mittels des Duncan-Testes durchgeführt wurde, findet sich in den Tabellen 19-26. In der mit "Sicherung" überschriebenen Spalte dieser Tabellen ist die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben, welche der Duncan-Test für die Aussage liefert, die jeweilige Mittelwertdifferenz sei statistisch gesichert von 0 verschieden. Diese Irrtumswahrscheinlichkeit wurde nur dann angegeben, wenn sie kleiner als 5% bzw. als 1% ist, da nur in diesem Falle überhaupt eine statistische Sicherung vorliegt. Die Tabellen 19-26 enthalten außerdem für jeden Zeitpunkt den Mittelwert $\bar{x}$ und die Varianz s^2 , sowie für jeden Zeitpunkt p.i. die Mittelwertdifferenz $\bar{x}_t - \bar{x}_0$. Wie bereits oben erläutert wurde, ist diese Mittelwertdifferenz ein Maß für die Änderung der Quaddel-Größe, welche durch die Histamin-Applikation bewirkt wird. Schließlich enthalten die Tabellen noch die sogenannte prozentuale Hyaluronidasehemmung, die wir in der üblichen Weise aus den Ausgangswerten und den zu dem betreffenden Zeitpunkt beobachteten Werten errechneten. Dieser Größe kommt statistisch nur eine bedingte Bedeutung zu, statistisch wesentlicher ist die tatsächliche Größe der Mittelwertdifferenzen.

Die Stichprobenumfänge der vorliegenden Untersuchungen waren zu klein, um etwaige Unterschiede in den Effekten der Dosen $0,3 \gamma$, $0,5 \gamma$ und $1,0 \gamma$ festzustellen. Die Ergebnisse scheinen jedoch einen Hinweis dafür zu liefern, daß mit zunehmender Dosierung der maximale hyaluronidasehemmende Effekt des Histamins früher eintritt und auch länger anhält. Hinsichtlich der Größe dieses maximalen Effektes liegen zwischen den Dosierungen $0,3 \gamma$ und $0,5 \gamma$ praktisch keine Unterschiede vor, während bei der Dosierung $1,0 \gamma$ eine etwas höhere Hyaluronidasehemmung erzielt wird als bei den kleineren Dosen. Als statistisch gesichert gelten kann jedoch, daß die Dosis $0,05 \gamma$ Histamin nicht in der Lage ist, eine Hyaluronidasehemmung zu bewirken.

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	5	124	91			
FH_v	5	225	140			
$F_{10'}$	5	117	53	- 7		
$FH_{10'}$	5	181	38	- 44	41,5%	1%
$F_{30'}$	5	120	8	- 4		
$FH_{30'}$	5	174	15	- 51	48,6%	1%

T a b e l l e 19

(Versuchsreihe 1a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	5	120	186			
FH_v	5	217	348			
$F_{20'}$	5	121	214	+ 1		
$FH_{20'}$	5	184	179	- 33	33,8%	1%
$F_{40'}$	5	116	49	- 4		
$FH_{40'}$	5	168	209	- 49	50,1%	1%

T a b e l l e 20

(Versuchsreihe 1b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F _v	5	125	54			
FH _v	5	226	155			
F _{10'}	5	126	187	+ 1		
FH _{10'}	5	205	266	- 21	21,1%	1%
F _{30'}	5	125	46	0		
FH _{30'}	5	190	128	- 36	36,0%	1%

T a b e l l e 21
(Versuchsreihe 2a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F _v	5	131	56			
FH _v	5	237	73			
F _{20'}	5	130	49	- 1		
FH _{20'}	5	217	346	- 20	18,7%	1%
F _{40'}	5	130	57	- 1		
FH _{40'}	5	199	496	- 38	35,6%	1%

T a b e l l e 22
(Versuchsreihe 2b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	P
F_v	5	111	106			
FH_v	5	210	78			
$F_{10'}$	5	117	75	+ 6		
$FH_{10'}$	5	187	345	- 23	24,4%	1%
$F_{30'}$	5	115	71	+ 4		
$FH_{30'}$	5	172	373	- 38	39,2%	1%

T a b e l l e 23
(Versuchsreihe 3a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	5	120	55			
FH_v	5	217	72			
$F_{20'}$	5	113	127	- 7		
$FH_{20'}$	5	222	139	- 15	15,4%	
$F_{40'}$	5	116	25	- 4		
$FH_{40'}$	5	192	153	- 25	25,3%	1%

T a b e l l e 24
(Versuchsreihe 3b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	5	107	52			
FH_v	5	197	142			
$F_{10'}$	5	110	31	+ 3		
$FH_{10'}$	5	195	135	- 2	2,68%	
$F_{30'}$	5	106	53	- 1		
$FH_{30'}$	5	189	162	- 8	9,4%	

T a b e l l e 25
(Versuchsreihe 4a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	5	117	49			
FH_v	5	205	370			
$F_{20'}$	5	117	59	0		
$FH_{20'}$	5	208	405	+ 3	-3,3%	
$F_{40'}$	5	111	42	- 6		
$FH_{40'}$	5	206	514	+ 1	-1,6%	

T a b e l l e 26
(Versuchsreihe 4b)

II. Statistische Auswertung der Direktversuche

Die statistische Methodik, nach der diese Versuche ausgewertet wurden, ist grundsätzlich die gleiche, wie sie oben bereits für die Versuchsreihen 1-4 erörtert wurde. Lediglich die Fragestellungen, die geprüft wurden, unterscheiden sich von den oben diskutierten.

Zunächst wurde wieder mittels einer Varianz-Analyse geprüft, ob zwischen den hier beobachteten Quaddeln (je eine reine Farbstoff-Quaddel und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ohne und mit Histaminzusatz) Abweichungen voneinander bestehen. Im Anschluß an die Varianz-Analyse mittels des Duncan-Testes wurde geprüft, zwischen welchen Quaddel-Typen speziell diese Abweichungen auftreten. Das Ergebnis der Varianz-Analysen findet sich in den Tabellen 27 und 29. Die in den Varianz-Analysen ermittelte Rest-Varianz diente wieder als Schätzung des Versuchsfehlers bei der Durchführung des Duncan-Testes. Die Bedeutung des am Fuße der Varianz-Analysen angegebenen Bartlett-Testes ist die gleiche, wie sie oben erörtert wurde.

Das Ergebnis des Duncan-Testes und damit die Aussage, welche Typen von Quaddeln sich unterscheiden, findet sich in den Tabellen 30 und 31, deren Anordnung die gleiche ist wie sie oben bereits erklärt wurde.

Eine statistisch gesicherte Änderung der reinen Farbstoff-Quaddel bzw. der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Zusatz von Histamin liegt nur bei der Versuchsreihe 5 (0,1 γ Histamin) vor. Bei der Versuchsreihe 6 dagegen bleiben beide Quaddeln nach Zusatz von Histamin praktisch unverändert (s. die angegebenen Mittelwertdifferenzen).

Bei der Versuchsreihe 5 ergibt sich eine schwach gesicherte Verkleinerung der reinen Farbstoffquaddel nach Zusatz von Histamin und eine streng gesicherte Verkleinerung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Zusatz von Histamin. Die entsprechenden Werte der Mittelwertdifferenzen deuten darauf hin, daß die Abweichungen zwischen der Änderung der reinen Farbstoffquaddel und derjenigen der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Zusatz von Histamin nicht zufällig sind, sondern daß hierin ein systematischer Effekt zum Ausdruck kommt. Vergleicht man die Änderung, welche die reine Farbstoffquaddel bzw. die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Zusatz von Histamin gegenüber ihrem Ausgangswert bei den einzelnen Tieren erfahren, mittels einer Varianz-Analyse (Tabelle 28), so zeigt sich, daß statistisch hoch gesicherte

Unterschiede zwischen den Änderungen der reinen Farbstoffquaddel und der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vorliegen.

Es zeigt sich somit, daß beide Quaddel-Typen nach Zusatz von 0,1% Histamin in die Quaddel eine statistisch gesicherte Hemmung erfahren, wobei die Hemmung, welche die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel erfährt, statistisch hoch gesichert größer ist als diejenige der reinen Farbstoffquaddel.

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.901	475	5,72	1,0%
Zwischen Stufen	3	53.137	17.712	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	1.000	83		
Gesamt-Varianz	19	56.138	2.955		

$$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 3,705; \quad p = 20\%$$

T a b e l l e 27
(Versuchsreihe 5)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.074,60	268,65	5,42	-
Zwischen Quaddel-Typen	1	8.179,60	8.179,60	100,00	0,1%
Rest-Varianz	4	198,40	49,60		
Gesamt-Varianz	9	9.452,60	1.050,29		

T a b e l l e 28

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2.038	408	6,58	1,0%
Zwischen Stufen	3	72.639	24.213	100,00	0,1%
Rest-Varianz	15	926	62		
Gesamt-Varianz	23	75.603	3.287		

n = 3; $\chi^2_{\text{emp.}} = 5,235$; p = 10%

T a b e l l e 29
(Versuchsreihe 6)

	N	$\bar{x}$	s ²	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F	5	109	45			
F + Hi	5	94	180	- 15	-	5%
FH	5	216	174			
FH + Hi	5	143	351	- 73	-	1%

T a b e l l e 30
(Versuchsreihe 5)

	N	$\bar{x}$	s ²	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F	6	124	68			
F + Hi	6	125	47	+ 1		
FH	6	215	171			
FH + Hi	6	214	307	- 1		

T a b e l l e 31
(Versuchsreihe 6)

Diskussion

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß 1 γ Histamin i.v. zu einer statistisch zu sichernden Hemmung der Hyaluronidaseaktivität mit einem Maximum bei 40 min nach der Injektion führt. Diese hyaluronidasehemmende Wirkung ist auch nach Injektion von 0,5 γ bzw. 0,3 γ Histamin i.v. noch vorhanden, aber in wesentlich geringerem Ausmaß. Nach 0,1 γ Histamin i.v. tritt keine deutliche Wirkung mehr zu Tage. Wenn man also eine Mitwirkung des Histamins im Wirkungsablauf nach Gabe hyaluronidasehemmender Substanzen in Betracht ziehen will, so müßten Mengen von über 0,1 γ freigesetzt werden. Es war nun die Frage, ob vielleicht Histamin als letztes Glied der Reaktionskette die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bedingt. Wenn dieses der Fall wäre, so müßte eine Histaminbeimengung in intracutan gesetzten Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln in wesentlich geringeren Mengen zu einer Hemmung der Ausbreitung des Farbstofffleckes führen, wie dieses nach i.v. Gabe der Fall ist. Die Ergebnisse der Versuchsreihen 5 und 6 zeigen, daß mit 0,1 γ Histamingehalt in 0,1 ccm der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung noch annähernd eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auftritt. Bei 0,05 γ Histamingehalt in 0,1 ccm der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung tritt eine Hyaluronidasehemmung nicht mehr auf. Da die Histaminmenge bei i.v. Zufuhr jeweils auf 100 g Tier berechnet wurde, ist bei dem Versuchstiergewicht von durchschnittlich 172 g die geringste Menge i.v. zugeführten Histamins, die noch eine schwache Hyaluronidasehemmung auslöst, mit durchschnittlich 0,34 γ erreicht. Die direkt in der Quaddel noch wirksame Histaminmenge müßte damit jedoch entsprechend der Verteilung im Organismus wesentlich geringer sein.

Die bei Injektion in die Quaddel noch hyaluronidasewirksame Histaminmenge (zwischen 0,05 γ und 0,1 γ) ist damit zwar geringer als die kleinste noch wirksame i.v. Dosis, die angegebene Relation läßt jedoch nicht den Schluß zu, daß allein die i.v. zugeführte Histaminmenge direkt die Hyaluronidasehemmung in der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel bewirkt. Die Histaminmengen der i.v. applizierten Dosis, die in dem Ausdehnungsbereich der Farbstoff-Quaddel ankommen, müßten weitaus geringer sein, als diejenige geringste Menge, die bei direkter Histamininjektion in die Quaddel wirksam ist. An dieser Feststellung dürfte auch der bei Ratten relativ hohe physiologische Histamingehalt besonders der Haut nichts Wesentliches ändern. Er ist jedoch als zusätzliche Histaminmenge zu diskutieren, die jedoch auch bei dem Versuch mit di-

rekter Histaminapplikation zur Verfügung steht. Allerdings bleibt die Frage offen, inwieweit Histamin aus den Mastzellen der Haut durch lokal injiziertes Histamin nicht, wohl aber durch i.v. appliziertes Histamin freigesetzt wird. Differenzierte Untersuchungen der hier vorliegenden Verhältnisse wären zur Klärung dieser Frage notwendig.

Es erscheint zunächst möglich, daß i.v. appliziertes Histamin zu einer weiteren Freisetzung körpereigenen Histamins führt, so wie ähnliche Verhältnisse auch beim Adrenalin vorliegen, das nach F o r s t ³⁷, M a l o r n y ³⁸ und K a i n z ³⁹ eine zusätzliche Katecholamin-ausschüttung aus dem Nebennierenmark erzielen läßt. Diese Untersuchungsergebnisse schließen jedoch eine maßgebliche Beteiligung des Histamins als Folge einer Katecholaminausschüttung im Wirkungsablauf beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung nicht aus.

Nach S t a u b ⁴⁰ ist bekannt, daß Adrenalin zu einer Histaminfreisetzung führt. Untersuchungen von K o n t i s ³⁵ haben gezeigt, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung durch das Antihistaminicum Avil aufgehoben wird. Nach den Arbeiten von H r i s t o p h o r i s ⁴¹, W e i s s ²⁴ und V o g e l ²⁵ hebt Avil auch die Hyaluronidasehemmung des Adrenalins und Phenylbutazons auf. Nach Untersuchungen von M a x e i n ⁴² und M e d e r ⁴³ ist auch eine Beteiligung des Heparins am Zustandekommen der Hyaluronidaseaktivität in vivo möglich, die durch Protaminsulfat aufgehoben wird. Auch die Hyaluronidasehemmung des Adrenalins und Noradrenalins sowie die der geprüften hyaluronidasehemmenden Substanzen (Natriumsalicylat, Phenylbutazon, Prednisolon, Oestronsulfat und Moorbäder) wird durch Protaminsulfat blockiert ⁴⁴. Die hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins wird außer durch Antihistaminica auch durch Ergotamintartrat aufgehoben. Dieses erscheint möglich, da z.B. von B i r c h e r und S c h a l c h ⁴⁵ ein antihistaminergischer Effekt von Ergotamin in bestimmten Wirkungsqualitäten nachgewiesen wurde.

Ein gleiches Verhältnis wurde bei gleichzeitiger Gabe eines Antihistaminicums mit Heparin gefunden, indem durch ein Antihistaminicum die Hyaluronidasehemmung des Heparins deutlich reduziert wird ⁴⁴.

H a l e y und S k o l a r s k y ⁴⁶ haben einen heparinblockierenden Effekt antihistaminergischer Substanzen aufzeigen können. Es erscheint nicht verwunderlich, daß evt. Heparin und Histamin gemeinsam am

Zustandekommen des Effektes hyaluronidasehemmender Substanzen beteiligt sind. Wir wissen von R i l e y und W e s t ⁴⁷, daß die Mastzellen Histamin enthalten, das dort nach W e r l e und A m a n n ⁴⁸ und S a n y a l und W e s t ⁴⁹ an die SO_3H -Gruppen des in den Granula enthaltenen Heparins gebunden ist.

Ein genauer Wirkungsablauf kann auf Grund der bisher vorliegenden Untersuchungen noch nicht aufgezeigt werden. Die Ergebnisse der vorgelegten Arbeit können jedoch im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen einen Beitrag zur Aufklärung des Gesamtfragenkomplexes liefern.

Zusammenfassung

Es wurde mit Hilfe einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel-Methode gezeigt, daß Histamin in Minimaldosen von etwa 0,3 γ i.v. noch eine deutliche hyaluronidasehemmende Wirkung entfaltet. Auf Grund bisher vorliegender Untersuchungen wird eine Beteiligung des Histamins im Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen diskutiert. Es scheint möglich, daß hierbei Histamin im Anschluß an eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark freigesetzt wird. Durch Wirkungsvergleiche mit direkt in die Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung gegebene Histaminmengen ist vorläufig eine Klärung der Frage nicht möglich, ob Histamin das letzte Glied der Kette im Wirkungsablauf darstellt, das letztlich die Hyaluronidasehemmung bedingt.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. und Jankowski, A.: Klin. Wschr. 33, 892 (1957)
- 2) Mathies, H.: Med. Klin. 52, 1676 (1957)
- 3) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 4) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. 12, I/87 (1958)
- 5) Mathies, H.: im Manuskript
- 6) Mathies, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 7) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Arzneimittelforsch. 9, 576 (1959)
- 8) Mathies, H., Glück, A. u. Schub, T.: in Vorbereitung
- 9) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. im Druck
- 10) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 11) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 12) Hartmann, M.: Diss. München 1959
- 13) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 14) Gerson, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 15) Glück, A.: Diss. München 1959
- 16) Rösch, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 17) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 18) Jung, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 19) Sayers, G. u. Sayers, M.: Endocrinology (Springfield) 40, 256 (1947)
- 20) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 21) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 22) Schmidt, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 23) Mathies, H. u. Mitarbeiter: Med. exp. 1, 64 (1959)
- 24) Weiss, G.: Diss. München in Vorbereitung
- 25) Vogel, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 26) Lingnau, W.: Diss. München in Vorbereitung
- 27) Mathies, H.: Med. Mschr. 11, 791 (1957)
- 28) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 17, 375 (1958)
- 29) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 582 (1958)
- 30) Wiesmüller, J.: Diss. München 1958
- 31) Kuepach, M.v.: Diss. München 1957
- 32) Werther, G.v. Diss. München 1958
- 33) Schub, T.: Diss. München 1959
- 34) Pantlitschko, M. u. Kaiser, E.: Bioch. Zschr. 322, 137 (1951)
- 35) Kontis, N.: Diss. München in Vorbereitung
- 36) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R. (17)
- 37) Forst, A.W.: persönliche Mitteilung

- 38) Malorny, G.: Dtsch. med. Journ. 4, 1 (1955)
- 39) Kainz, A.: Diss. München in Vorbereitung
- 40) Staub, H.: Exper. 2, 29 (1946) und Helv. Physiol. acta 2, 117 (1945)
- 41) Hristophoris, A.: Diss. München in Vorbereitung
- 42) Maxein, H.: Diss. München 1959
- 43) Meder, H.: Diss. München in Vorbereitung
- 44) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. f. Inn. Med. 65. Kongreß 1959
- 45) Bircher, R. u. Schalch, W.R.: Helv. Physiol. acta 6 813 (1948)
- 46) Haley, H. u. Skolarsky, F.: Proc. soc. Exp. Biol. Med. 76, 299 (1951)
- 47) Riley, I.F. u. West, G.B.: Fed. Proc. 11, 350 (1952)
- 48) Werle, E. u. Amann, R.: Naturwissenschaften 42, 583 (1955) u. Klin. Wschr. 1956, 624
- 49) Sanyal, R.K. u. West, G.B.: Nature (London) 1956, 1293

Abschließend darf ich Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas danken.

Herrn Dr. H. Mathies danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die bei ihrer Abfassung erwiesene Unterstützung, ebenso Herrn Dipl.-Math. Liebrich für die statistische Auswertung der Versuche.

Am 28. September 1935 wurde ich als Sohn des Frauenarztes Dr. med. Hans Höland und seiner Ehefrau Margarete geb. Bartels in Breslau geboren. Dort besuchte ich die ersten drei Klassen der Volksschule. Nach der Flucht 1945 siedelte unsere Familie nach Wernigerode am Harz um, wo ich bis zu unserem Umzug nach Westberlin die Einheitsschule bis zur achten Klasse besuchte.

In Berlin trat ich in das Steglitzer Gymnasium ein, wo ich im März 1955 das Abitur bestand. Ich studierte in Marburg /Lahn drei Semester Medizin, legte nach zwei weiteren Semestern in Heidelberg das Physikum ab und war im Winter-Semester 1957/58 zum ersten klinischen Semester in Genf. Nach einem weiteren klinischen Semester in Marburg /Lahn setzte ich mein klinisches Studium in München fort. Hierbeabsichtige ich das medizinische Staatsexamen abzulegen.

